

Glykoprotein-Elektrophorese bei Kindern mit Mukopolysaccharidose

Ulrike Preisser

1975

AUS DER UNIVERSITÄTS-KINDER-POLIKLINIK MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. Spiess

GLYKOPROTEIN-ELEKTROPHORESE
BEI KINDERN MIT MUKOPOLYSACCHARIDOSE

In a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfasst und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilian-Universität zu München

vorgelegt von

Ulrike Preisser, geb. Koch
aus München

München 1975

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Priv. Dozent Dr. med. Suschke

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. Spiess

Dekan: Prof. Dr. med. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 16.12.75



I N H A L T S Ü B E R S I C H T

EINLEITUNG	5
Allgemeines zur vorliegenden Arbeit	5
Glykoproteine des Serums:	5
1. Definition	5
2. Struktur und Eigenschaften	6
3. Vorkommen und Bedeutung	7
4. Synthese und Abbau	8
5. Serumglykoprotein-Elektrophorese	8
Mukopolysaccharide:	10
1. Definition	10
2. Struktur und Arten	10
3. Synthese und Abbau	12
4. Vorkommen und Bedeutung	12
Mukopolysaccharidosen:	13
1. Definition	13
2. Geschichtliches und Typeneinteilung	13
3. Vererbungsmodus und Häufigkeit	14
4. Klinische Symptomatik	14
5. Diagnostik	14
6. Therapie	15
MATERIAL UND METHODE	16
Material	16
Methode	19
ERGEBNISSE	23
DISKUSSION	33
ZUSAMMENFASSUNG	37
LITERATURVERZEICHNIS	38



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Bei der routinemäßigen Durchführung der Serum-Glykoprotein-Elektrophorese in der ambul. und stat. Behandlung von Kindern fiel eine spike-ähnliche Erhöhung der α_2 -Glykoproteine bei Kindern mit Mukopolysaccharidose auf. In der vorliegenden Arbeit wurde deshalb die Glykoprotein-Elektrophorese bei 10 Kindern mit klinisch gesicherter Mukopolysaccharidose dargestellt. Zum Vergleich wurde die Bestimmung bei 35 gesunden Kindern nach derselben Methode durchgeführt.

Im folgenden wird zunächst auf Glykoproteine sowie auf Mukopolysaccharide und Mukopolysaccharidose näher eingegangen. Diese Begriffe sind im allgemeinen klinischen Gebrauch nicht alltäglich, jedoch notwendig für die hier vorliegende Arbeit.

Glykoproteine des Serums

1. Definition des Begriffes Glykoproteine und Abgrenzung gegen verwandte Begriffe.

Nach der Definition des "Committee on Protein Nomenclature" versteht man unter Glykoproteinen Verbindungen, die aus einem Molekül Protein und einer Kohlenhydratsubstanz oder einer kohlenhydrathaltigen Substanz bestehen, die von Nukleinsäure verschieden ist. (12)

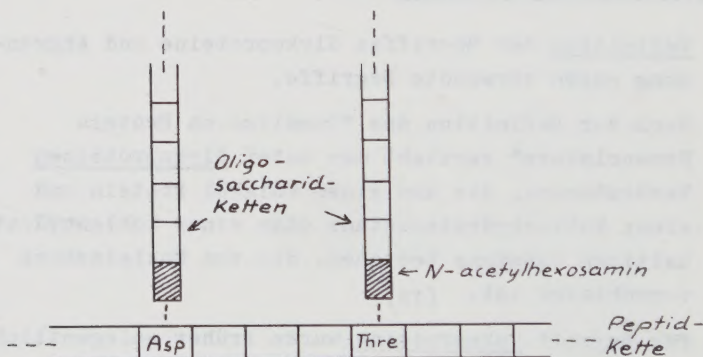
Der Begriff Mukoproteine wurde früher gelegentlich für Proteine mit hohem KH-Anteil gebraucht im Gegensatz zum Begriff Glykoprotein, den man für Proteine mit relativ geringem KH-Anteil verwendete. Diese Unterscheidung hat sich nicht bewährt, und man gebraucht heute den Begriff "Glykoprotein" unabhängig von der Größe des KH-Gehaltes. (5)

Glykoproteide wird im deutschsprachigen Raum oft gleichwertig mit Glykoproteine verwendet. (13)
Im englischsprachigen Schrifttum und in neueren deutschsprachigen Veröffentlichungen wird jedoch stets "Glykoproteine" verwendet.

2. Struktur und Eigenschaften der Glykoproteine.

Die Zuckerbausteine liegen in mehr oder weniger verzweigten Oligosaccharideinheiten vor. Sie können bestehen aus N-Acetylhexosamin, Mannose, Galaktose, Glukose, Xylose, Fucose und N-Acetylneuraminsäure. Sie sind in einer Amidbindung an die Peptidkette gebunden, wobei die Bindung meist über Acetylhexosamin an Asparagin oder Threonin der Peptidkette erfolgt. (1, 5).

Schematische Darstellung der Glykoproteine:



Es handelt sich dabei um eine relativ stabile kovalente Bindung, die ohne Veränderung des ganzen Moleküls nicht gelöst werden kann (z.B. nicht durch Ändern des p_H -Wertes oder der Ionenkonzentration). (5)

Glykoproteine lassen sich mit der PAS-Färbung nachweisen. (PAS = periodic acid Schiff. Mechanismus: Benachbarte unsubstituierte Hydroxylgruppen am Ende der Oligosaccharideinheiten werden mit Perjodsäure zu Aldehydgruppen oxydiert, und diese dann durch p-Rosanilin im Schiff'schen Reagenz nachgewiesen.) (5)

3. Vorkommen und Bedeutung der Glykoproteine.

Es gibt:

- Glykoproteine mit Blutgruppenaktivität (z.B. in Speichel, Marensoft, Urin)
- Glykoproteine in Schleimsubstanzen (z.B. in Speicheldrüsen, Bronchien, Magen, Corvix, Gallengänge)
- Glykoproteine in Bindegewebssubstanzen (z.B. in Kollagen, Retikulin, Basalmembranen, Linsenkapsel und anderen membranösen Strukturen)
- Plasmaglykoproteine

Alle elektrophoretischen Fraktionen außer der Albuminfraktion des Humanplasmas enthalten Glykoproteine. Der an Protein gebundene KH-Gehalt im Plasma beträgt sogar 273 mg%. (5). Der KH-Anteil eines Plasmaglykoproteins kann bis zu 40 % des gesamten Molekulargewichtes betragen. (1)

Als wichtigste Plasmaglykoproteine sind zu erwähnen:

- Die Transportproteine (Coeruloplasmin, Transferrin, Haptoglobin, thyroxinbindendes Protein).
- Das Prothrombin und Fibrinogen.
- Viele Hormone (z.B. alle gonadotropen Hormone, TSH, Erythropoetin, Thyroglobulin).
- Die Immunglobuline IgG, IgA, IgM. (4)

Die Wichtigkeit der Glykoproteine ergibt sich dabei bereits aus ihrem weit verbreiteten Vorkommen. Über die spezielle Bedeutung des Zuckeranteils gab es einige Spekulationen, z.B. daß er dem Protein den Austritt aus der Zelle ermöglicht (6), oder daß er für die "Erkennung" des Proteins wichtig ist (14, 1).

4. Synthese und Abbau der Glykoproteine.

Die meisten Plasmaglykoproteine werden in der Leber synthetisiert, mit Ausnahme der Immunglobuline (4). Der Proteinteil wird zuerst und unabhängig vom KH-Anteil aufgebaut. Die Anlagerung der Zuckerbausteine findet mit Hilfe mehrerer Enzyme vermutlich an den Membranen des endoplasmatischen Retikulums statt. Die Regulation dieses Vorganges, der sich postribosomal und damit ohne genetische Kontrolle abspielt, ist noch unklar.

Der Abbau der Glykoproteine vollzieht sich in den Lysosomen, die mit zahlreichen Abbauenzymen ausgerüstet sind, die nur z.T. bereits klar identifiziert sind.

5. Darstellung in der Serumglykoprotein-Elektrophorese.

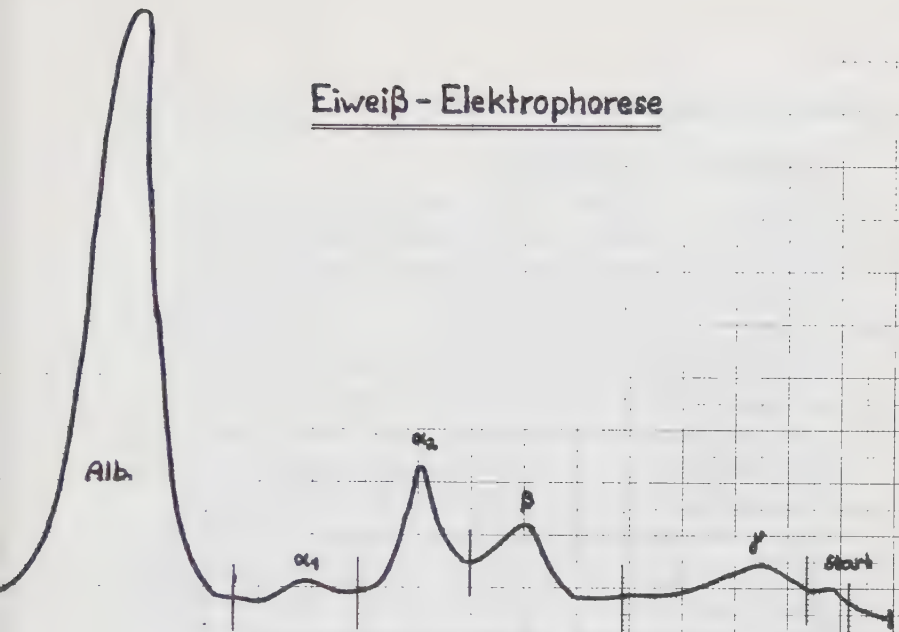
Die Darstellung der Serumglykoproteine mit Hilfe der Elektrophorese wird seit ca. 15 Jahren durchgeführt, und es wurden bereits bei zahlreichen Krankheiten bestimmte Veränderungen in der prozentualen Zusammensetzung beschrieben. Eine entscheidende Verbesserung des Verfahrens brachte die Einführung der Zelluloseacetatfolie als Trägermedium. Man erhält bei der Auftrennung und Färbung ein der Eiweiß-Elektrophorese entsprechendes Bild, wobei die α_1 - und α_2 -Fraktionen den höchsten KH-Gehalt aufweisen, und die Albuminfraktion fehlt, da diese keine Glykoproteine enthält. (1, 5, 7)

Auf das Verfahren und die bisher bei bestimmten Krankheiten bekannten Abweichungen wird weiter unten nochmals näher eingegangen.

Eine wesentlich genauere Darstellung der Serumglykoproteine ist heute auch mit Hilfe immunoelektrophoretischer Verfahren möglich.

Die folgende Abbildung zeigt ein Beispiel einer Elektrophorese mit Eiweiß-Färbung und KH-Färbung von jeweils der gleichen Patientin:

Eiweiß - Elektrophorese



Alb. α_1 α_2 β γ - Glob.



Eiweiß - Elpho



Glykoprotein - Elpho

Glykoproteinelektrophorese



Mukopolysaccharide

1. Definition des Begriffes.

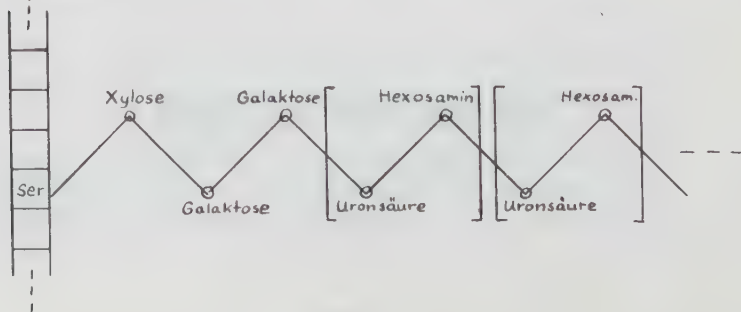
Mukopolysaccharide können nach neuerer Definition (24) auch Glukosamino-lykane genannt werden, was sich jedoch im medizinischen Sprachgebrauch nicht durchgesetzt hat. Auch ganz allgemein als Proteoglykane kann man sie bezeichnet finden, da sie aus einem Zucker- und einem Eiweißanteil bestehen. (4). (Dieser Begriff wird jedoch auch im engeren Sinne für den alten Namen Chondromukoprotein verwendet, das bereits ein spezielles Mukopolysaccharid ist). Im folgenden wird gelegentlich für saure Mukopolysaccharide die Abkürzung MPS verwendet. Daneben gibt es auch noch neutrale Mukopolysaccharide, die z.B. in Blutgruppensubstanzen vorkommen.

2. Struktur und Arten der MPS.

Chemisch sind MPS langkettige, unverzweigte Heteropolysaccharide, die aus sich wiederholenden Disaccharideinheiten bestehen. Ein Zucker ist zumeist eine Uronsäure, der andere ein Hexosamin. Fast alle enthalten Sulfatgruppen am Hexosamin. Die Heterosaccharidketten sind zweigartig über eine kovalente Bindung an lange Proteinketten gebunden. Die Bindung besteht zwischen einem Serin der Proteinkette und einer Xylose am Ende der Zuckerkette. (4, 26, 27).

Schematische Darstellung der Mukopolysaccharide

Peptidkette



Je nach Typ der MPS können vorkommen

als Uronsäure:

D-Glukuronsäure

L-Iduronsäure (sulfatiert
oder unsulfatiert)

(bei Keratansulfat: Galaktose
statt Uronsäure.)

als Hexosamin:

N-Acetyl-D-Galaktosamin-4-Sulfat

N-Acetyl-D-Glukosamin-6-Sulfat

Glukosamin (N-sulfatiert o.
unsulfatiert)

Es gibt folgende Typen von MPS:

neue Namen (24)

alte Namen

Chondroitin-4-Sulfat

Chondroitinsulfat A

Dermatansulfat

Chondroitinsulfat B

Chondroitin-6-Sulfat

Chondroitinsulfat C

Heparansulfat

Heparitinsulfat

Keratansulfat

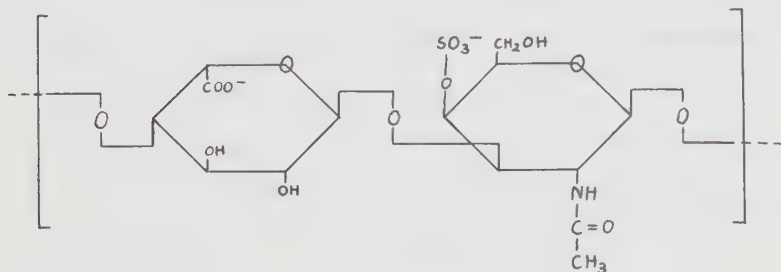
Keratosulfat

Überbegriff:

Glukosaminoglykane

Saure Mukopolysaccharide

Die folgende Abbildung zeigt die Formel der Disaccharideinheit beim Dermatansulfat als Beispiel: (28)



3. Synthese und Abbau der MPS

Sie sind zum großen Teil aufgeklärt.

Bei der Synthese wird zuerst an den Ribosomen die Proteinkette hergestellt. Durch diesen ersten Schritt wird die weitere Synthese der MPS quantitativ kontrolliert. Die Zuckerketten werden durch Anlagerung von Monosacchariden gebaut, wobei die Einzelbausteine als Uridin-Nukleotide geliefert werden, und UDP-Xylose als erstes an ein Serin der Proteinkette angelagert wird. Diese Anlagerung der Zuckerbausteine und die zuletzt stattfindende Sulfatierung finden vermutlich im endoplasmatischen Retikulum statt. (29,30,31).

Der Abbau der MPS ist für das Krankheitsbild der Mukopolysaccharidose von besonderer Bedeutung. Er findet in den Lysosomen durch eine Anzahl von Enzymen statt. Nach Proteolyse, Kettenverkürzung und Desulfatierung werden die Fragmente im Urin ausgeschieden. Die beteiligten Enzyme sind nicht nur in den Lysosomen vorhanden, sie kommen auch in der intrazellulären Flüssigkeit vor. (27). Diese Vorgänge wurden durch radioaktive Markierungsmethoden aufgeklärt.

4. Vorkommen und Bedeutung der MPS.

Dazu soll hier nur erwähnt werden, daß sie im menschlichen Körper vor allem in der Haut, in den Gefäßen, im Knochen- und Knorpelgewebe, in der Cornea und im Bindegewebe, jedoch auch in Organen wie z.B. Leber, Milz, ZNS vorkommen.

Mukopolysaccharidosen

1. Definition

Die Mukopolysaccharidosen sind Speicherkrankheiten, bei denen jeweils ein für den Krankheitstyp spezifisches Enzym aufgrund eines genetischen Defektes fehlt oder stark vermindert ist. Die Zellen der betroffenen Patienten können ein bestimmtes lysosomales Enzym für den Abbau der MPS nicht oder nur defekt produzieren, so daß nicht abgebaute MPS in den Lysosomen übermäßig angehäuft und auch vermehrt im Urin ausgeschieden werden. (27).

Weitere z.T. noch gebrauchte Synonyme sind: Gargyolismus, Chondroosteodystrophie, Dysostosis multiplex, ferner für den Typ I der Mukopolysaccharidosen oft der Begriff Pfaundler-Hurler'sche Krankheit.

2. Geschichtliches und Typeneinteilung.

Die ersten Beschreibungen dieser Krankheit stammen von Thompsen (1900), Hunter (1917) und Hurler (1919). Eine Einteilung in sechs Typen mit Hilfe der klinischen Symptomatik und des Vererbungsmodus wurde von McKusick 1969 (32) durchgeführt. Diese Typeneinteilung wurde nach der genauen Identifizierung einiger Enzymdefekte modifiziert. (27).

Tabelle zur Einteilung der Mukopolysaccharidosen:

nach McKusick (u. alte Namen)	nach Wendel (1974) mit Enzymdefekt
I.(Hurler-Syndrom)	I/V. α -L-Iduronidase
II.(Hunter-S.)	II. L-Iduronsulfat-Sulfatase
III.(Sanfilippo-S.)	III.A) Heparansulfat-Sulfatase B) N-acetyl- -D-glucosaminidase
IV.(Morquio-S.)	IV. unbekannt
V.(Scheie-S.)	
VI.(Maroteaux-Lamy-S.)	VI. unbekannt

3. Vererbungsmodus und Häufigkeit

Alle MPS-Speicherkrankheiten werden autosomal rezessiv vererbt außer dem Typ II (Hunter), der x-chromosomal rezessiv vererbt wird und somit nur männliche Individuen betrifft.

Die Gesamthäufigkeit aller MPS-Speicherkrankheiten beträgt 1 : 25 000; in der BRD werden jährlich etwa 20 - 30 Kinder mit Mukopolysaccharidose geboren. (33).

4. Klinische Symptomatik

Als Beispiel für die klinische Symptomatik wird im folgenden nur der häufigste Typ I kurz charakterisiert:

Die Krankheit beginnt diskret nach einigen Lebenswochen oder -monaten mit plumper, stumpfer, "gargolyer" Entstellung des Gesichtes. (Die Bezeichnung "gargoyle" stammt von gargouille, fr.= Wasserspeierfratzen an Kathedralen). Das Wachstum bleibt zurück, die geistige Entwicklung wird rückläufig. Hornhauttrübung, Hautverdickung, Schwerhörigkeit, Hepatosplenomegalie, Herzfehler und starke Skelettmißbildungen folgen. Häufige Infektionen der oberen Luftwege und Herzfehler führen zum Tod etwa im 10. Lebensjahr. Im Urin wird Heparan- und Dermatan-sulfat ausgeschieden, das man histologisch auch in allen Körperzellen abgelagert findet.

Zur Klinik der weiteren Typen soll nur erwähnt werden, daß Typ II etwas milder und länger verläuft, Typ III erst nach einigen Lebensjahren beginnt, und Typ IV, V und VI normale Intelligenz aufweisen.

5. Diagnostik der Mukopolysaccharidosen

Zur Diagnostik der Mukopolysaccharidose und des genauen Typs stehen heute mehrere Möglichkeiten zur Verfügung, die am besten in der unten angegebenen Reihenfolge angewandt werden: (33)

- Klinische Symptomatik, Anamnese, Verlauf
- Röntgenologische Skelettveränderungen
- Mukopolysaccharidausscheidung im Urin; bei weiterhin bestehendem Verdacht zusätzlich
- Fibroblastenkultur zur Typenbestimmung.

Da die lysosomalen Enzyme auch in der Fibroblastenkultur durch die Zellwand abgegeben und aufgenommen werden, können Zellen unterschiedlichen Krankheitstyps ihren Enzymdefekt gegenseitig korrigieren. Diese metabolische Korrektur kann durch Markierung der MPS mit radioaktivem Sulfat ($^{35}\text{SO}_4$) kontrolliert werden. (34).

Zur pränatalen Diagnose wurde bisher die MPS-Konzentration im Fruchtwasser verwendet, was kein ganz zuverlässiges Ergebnis brachte. Neuerdings ist auch die Methode der Amnionzellkultur in der 15. Schwangerschaftswoche eingeführt worden, wobei wieder das Prinzip der metabolischen Kreuzkorrektur verwendet wird. (33, 35).

6. Therapie der Mukopolysaccharidosen

Therapeutisch gab es bisher zahlreiche unbefriedigende Versuche, so z.B. mit Plasmainfusionen, in denen jedoch die erwünschte "korrektive" Enzymaktivität viel zu niedrig ist. (36). Eine Lösung des Problems wird die Herstellung der entsprechenden Enzymproteine bringen, was in absehbarer Zeit möglich sein soll. (33).

Material

Um die Glykoprotein-Elektrophorese von Kindern mit Mukopolysaccharidose vergleichen zu können mit der von gesunden Kindern, wurde zuerst eine Tabelle mit den Normalwerten in relativ-% von 35 gesunden Kindern aufgestellt, die in ambulanter Behandlung waren wegen Erziehungsschwierigkeiten, Sprachfehlern oder Entwicklungsverzögerung und internistisch durchuntersucht wurden. Es wurden nur Seren von Kindern mit völlig unauffälligen Laborwerten und normalem klinischen Befund verwendet.

Die Notwendigkeit, eine Normalwerttabelle im Labor aufzustellen, ergab sich aus folgenden Gründen:

1. In der bisher veröffentlichten Literatur ließen sich sehr unterschiedliche Angaben über Normalwerte bei der Glykoprotein-Elektrophorese finden.

Einige Beispiele:

Autor	Glykoprot. in rel.-% in der Fraktion:				
	Alb.	α_1 -	α_2 -	β -	γ -Glob.
Klainer (7)	6,1	13,4	31,2	24,3	25,0
Kelsey (9)	10,9	18,6	29,6	21,6	19,3
Pearce (10)	15,6	8,5	32,1	26,0	17,9
Greiser (15)	10,5	17,5	28,5	25,5	15,0
Nikolaeva(16)	4,9	18,7	30,0	27,0	19,4

2. Es ließ sich keine Literaturangabe über Normalwerte bei Kindern finden, andererseits der Hinweis, daß das Alter einen Einfluß auf die Glykoprotein-Elektrophorese habe. Pearce stellte in einer ausführlichen Untersuchung fest, daß in den beiden ersten Lebensjahrzehnten sicher ein leichter Anstieg der Beta-Globuline und vielleicht eine Verminderung der Alpha-2-Globuline stattfindet (10).

3. Sowohl in früherer Literatur über experimentelle Arbeiten als auch in Anleitungen zur Durchführung der Glykoprotein-Elektrophorese wird empfohlen, in jedem Labor eigene Normalwerte festzustellen. (7, 9, 17)

Die Glykoprotein-Elektrophorese vom Serum gesunder Kinder wurde anfänglich bei 21 Kindern im Doppelversuch durchgeführt: a) mit frischem Serum, b) mit Serum, das einige Tage auf -20°C eingefroren und langsam wieder aufgetaut worden war. Dabei konnte kein Einfluß des Einfrierens und Auftauens auf das Ergebnis festgestellt werden. Dies wurde durch eine Arbeit von Klainer (7) bestätigt gefunden, der schreibt: "Einfrieren auf -20°C und langsames Auftauen bei Zimmertemperatur hatte keinen Einfluß auf die erhaltenen Werte." Er weist jedoch darauf hin, daß zu rasches Einfrieren (z.B. in Trockeneis) und zu rasches Auftauen die Werte beachtlich verändert. In der Folgezeit wurde überwiegend Serum, das eingefroren war, und nur gelegentlich frisches Serum verwendet.

Nach der Aufstellung der Normalwerttabelle wurde die Glykoprotein-Elektrophorese bei 10 Kindern mit Mukopolysaccharidose durchgeführt. Diese Kinder waren z.T. in stationärer Beobachtung, z.T. standen sie unter ambulanter Kontrolle.

Das jüngste Kind war 2 Jahre alt, das älteste 17 Jahre, die Hälfte der Kinder befand sich in der Altersgruppe 4 - 5 Jahre.

Die Diagnose Mukopolysaccharidose ergab sich aus klinischen, röntgenologischen und vornehmlich biochemischen Befunden.

Es handelt sich dabei um folgende Typenzugehörigkeit:

3 Kinder mit Mukopolysaccharidose Typ 1

1 Kind " " " 2

1 " " " " 3

2 Kinder " " " 4

0 " " " " 5

3 " mit unklarer Typenzugehörigkeit.

Eine zusätzliche Erkrankung, die außerhalb der durch Mukopolysaccharidose verursachten Symptome fällt, war derzeit bei den Kindern nicht bekannt.

Eine medikamentöse Behandlung hat längere Zeit vor der Blutentnahme nicht stattgefunden.

Methode

Bei der Durchführung der Glykoprotein-Elektrophoresen wurde die Anleitung von J. Kohn: "Zur Technik der Celluloseacetat-Elektrophorese", eingehalten, die von der Firma Shandon Labortechnik GmbH bezogen worden war. (17).

Kohn schreibt zur Durchführung: "Absolut gültige Regeln lassen sich nicht aufstellen, und es ist am besten, die geeignetsten Bedingungen (Spannung, Stromstärke, Startlinie usw.) jeweils empirisch für jedes Laboratorium und gemäß den besonderen Umständen auszuarbeiten."

Aus diesem Grund erscheint es nicht sinnvoll, die Versuchsbedingungen allzu detailliert zu beschreiben.

In der hier vorliegenden Arbeit wurde weitgehend oben genannte Anleitung eingehalten. Es wird im folgenden nur kurz die darin empfohlene Methode (und gegebenenfalls abweichende Bedingungen) angegeben.

- Elektrophorese-Apparat nach Kohn, der besonders für Celluloseacetatfolien-Elektrophorese konstruiert ist (jedoch auch für Papier, Agargel und Stärke geeignet ist). Die Celluloseacetatfolie hat eine hohe Verdunstung an der Oberfläche der Folie mit der Gefahr der Überhitzung; daher wird dieser speziell konstruierte Tank empfohlen.
- Celluloseacetatfolienstreifen (Shandon Celagram^R) von 6 - 8 cm Länge.

Es wurden breite Bögen zur gleichzeitigen Trennung einer Anzahl verschiedener Proben verwendet und man erhielt daraus Einzelstreifen von 7 cm Länge und 2,5 cm Breite, die sich genau auf die üblichen Objektträger aufziehen lassen.

- Puffer: 0,05 - 0,07 molarer Veronalpuffer mit p_H 8,6.
- Probenmenge und Lage der Startlinie: Für die Glykoprotein-Elektrophorese ist eine bedeutend größere Serummenge notwendig (ca. 3 - 4 mal so groß, wie bei der Eiweiß-Elektrophorese).
- Stromversorgung: Bei einem Arbeitsabstand von 6 - 8 cm Länge wird eine Spannung von 15 - 25 V/cm Länge empfohlen, eine Stromstärke von etwa 0,4 - 0,5 mA pro cm Streifenbreite und eine Laufzeit von 1 1/2 - 2 1/2 Stunden. Die Trennungsbilder sollten zum mindesten 3 - 4 cm lang sein, um Zonenüberschneidung zu vermeiden.

Man erhielt bei einem Brückenabstand von 8 cm, einer Spannung von 170 Volt und einer Laufzeit von 2 Stunden eine Auftrennung von über 5 cm.

- Gesonderter Arbeitsgang für die Darstellung der Glykoproteine nach der Elektrophorese:

Trocknen bei 80-100° C

Alkoholbad 10 min.

Perjodsäurelösung 10 min.

Kurzes Spülen in n/1000 HCl

Einlegen in 10-%iges angesäuertes Jodkalibad bis zur Braunfärbung.

Zusatz von einigen Tropfen ges. Ammoniumthiosulfatlösung und Belassen im Bad, bis die gelben Banden auf den Streifen vollkommen farblos geworden sind.

Spülen in n/1000 HCl.

Färben: In Schiff-Reagenz-Lösung für 10-30 min., bis sich die Banden der Glykoproteinfraktionen rot-violett angefärbt haben.

Entfärben: Waschen 3 mal in 0,5-%iger Salpetersäure, je ca. 10-15 min. lang.

Kurzes Spülen in n/1000 HCl.

Trocknen: Flach bei Zimmertemperatur zwischen Filterpapier.

Kohn schreibt: "Wenn der Färbe- und Waschvorgang richtig ausgeführt worden sind, bleibt der Hintergrund völlig farblos, und das Albumin wird praktisch nicht angefärbt."

Dazu ist zu erwähnen, daß in der bisher veröffentlichten Literatur über Glykoprotein-Normalwerte in der Albuminfraktion fast immer positive Werte angegeben sind. Es wurde vermutet, daß dies auf technischen Schwierigkeiten bei der Glykoprotein-Elektrophorese beruht, z.B. auf der Schwierigkeit, das Trägermaterial vollständig zu entfärben. (Dies ist vor allem bei der papier-elektrophoretischen Darstellung der Glykoproteine kaum möglich, da sich nicht nur die Eiweißzucker anfärben, sondern auch die Zellulose des Papierstreifens.) (11).

Theoretisch enthält die Albuminfraktion jedoch keine Glykoproteine. (1, 3, 4, 5).

Daß die vorliegende Arbeit mit ihrer Darstellung ohne jegliche Anfärbung in der Albuminfraktion richtig liegt, haben auf Anfrage hin Fachleute auf dem Gebiet der Elektrophorese bestätigt. (18, 19).

- Transparentmachen und Auswerten der Streifen:

Zum Transparentmachen eignet sich Ölimprägnierung oder Quellungsmittel.

Bei der vorliegenden Arbeit wurde Eisessig als Quellungsmittel verwendet, wodurch man trockene Transparentfolien erhielt.

Die transparenten Streifen wurden mittels Reflektion gegen einen weißen Hintergrund gemessen, was angeblich die besten Resultate ergeben soll. Dazu wurde ein Integrationsdensitometer verwendet..

ERGEBNISSE

Es ergaben sich folgende Mittelwerte bei den 35 gesunden Kindern und bei den 10 Kindern mit Mukopolysaccharidose:

	Glykoproteine in rel. %			
	Alb.	α_1 -	α_2 -	β - γ -Glob.
Normalwerte (n=35)	-	13,0	44,2	24,3 18,5
Kinder mit Mukop. (n=10)	-	13,2	51,9	21,4 13,5

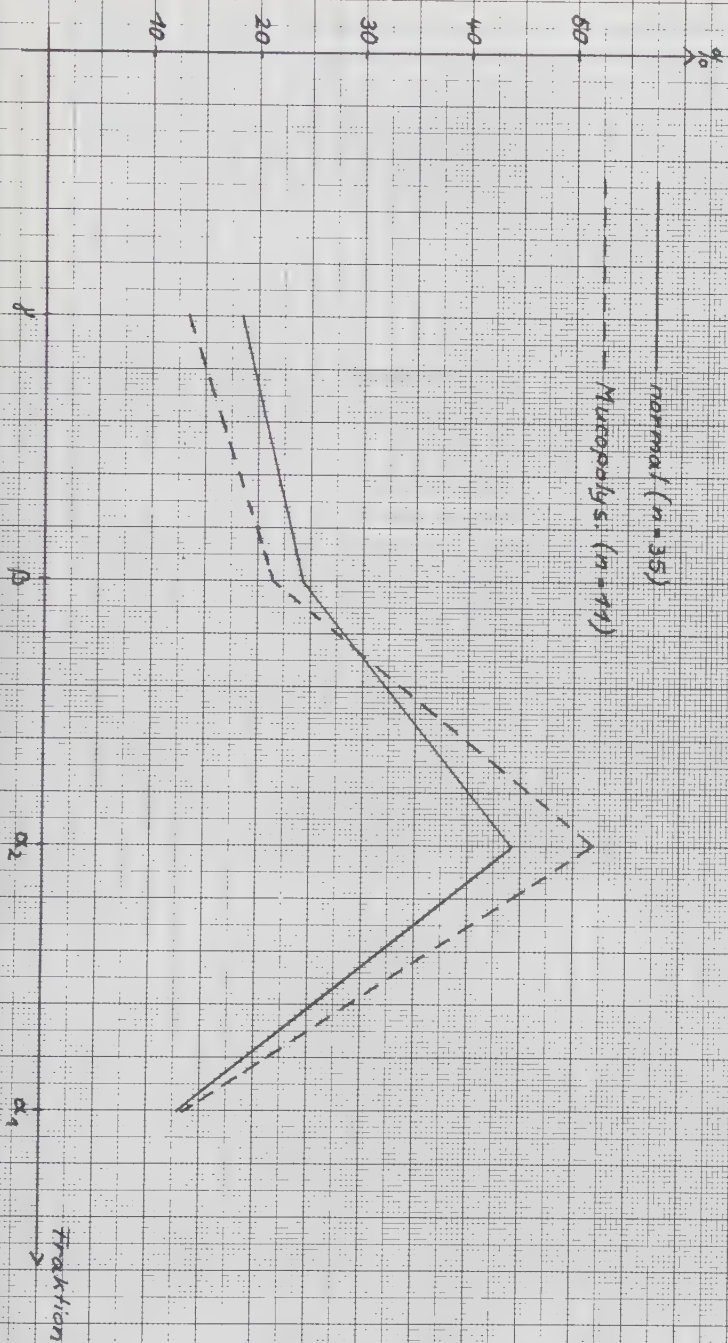
Bei den Normalwerten fällt auf, daß die α_2 -Werte etwas höher liegen, als die bisher in der Literatur angegebenen α_2 -Werte bei Erwachsenen. Es besteht die Möglichkeit, daß dies nicht nur durch unsere Methode bedingt ist, sondern auch darauf zurückzuführen ist, daß bei Kindern im Verlauf der ersten 2 Lebensjahrzehnte eine Verminderung der α_2 -Globuline stattfindet, also diese im kindlichen Lebensalter noch höher liegen, wie weiter oben im Kapitel "Material" bereits erwähnt wurde. Auf den Umstand, daß wir in der Albuminfraktion keine Glykoproteine erhielten, wurde ebenfalls weiter oben im Kapitel "Methode" eingegangen.

Bei den Kindern mit Mukopolysaccharidose fällt eine deutliche Erhöhung in der α_2 -Fraktion auf, die auf Kosten der β - und γ -Fraktion geht. Um diese Erhöhung in der α_2 -Fraktion anschaulich darzustellen, wurden die Tabellenwerte in einer Kurve dargestellt:

Mittelwerte

	rel. % β -	β -	α_2 -	α_1 -Glob.
Normalwerte	11	28	48	13
	17	29	47	12
	23	26	44	7
	17	25	43	15
	15	29	42	19
	27	23	38	15
	18	27	42	16
	17	20	56	10
	22	18	48	12
	23	26	38	13
	19	37	36	14
	27	23	45	11
	28	27	37	9
	19	26	38	17
	13	26	44	13
	16	27	50	10
	19	27	37	17
	24	28	34	14
	20	26	42	12
	15	23	52	10
	77	22	50	11
	18	29	42	11
	77	22	46	15
	20	29	40	11
	77	22	46	13
	16	28	47	11
	16	77	55	15
	27	24	39	13
	19	23	46	12
	77	27	48	11
	78	27	48	12
	26	27	39	15
	8	27	51	14
	19	27	39	15
	18	23	44	15
Mittelwerte:	18,5	24,3	44,2	13,0
Werte bei Mukop.	18	27	49	12
	77	27	50	9
	7	27	54	15
	6	27	60	13
	9	19	58	16
	16	27	53	10
	13	20	57	16
	20	19	50	11
	77	23	48	15
	15	22	48	15
Mittelwert:	13,5	24,4	51,9	13,2

Mittelwerte



In der folgenden Betrachtung wird der Erniedrigung in der β - und γ -Fraktion nicht nachgegangen, da diese vermutlich nur durch die Messung in Relativ-% zustande kommt und bei der Erfassung der Absolutwerte nicht mehr ins Gewicht fallen würde. Es ging dies auch aus der Betrachtung der Kurvenbilder hervor, , bei der die β - und γ -Fraktion nicht als erniedrigt auffielen im Vergleich zu den Normalkurven, jedoch stets eine spike ähnliche Erhöhung der α_2 -Fraktion.

Die angegebenen α_2 -Werte sind jeweils Mittelwerte und es dürfte von Interesse sein, aus einer wie breiten Streuung sie sich jeweils ergeben haben, da man daraus z.B. grob abschätzen kann, mit welcher Sicherheit ein α_2 -Wert bei einem Kind mit Mukopolysaccharidose vom α_2 -Wert eines gesunden Kindes nach oben abweicht. Zu diesem Zweck wurde die Verteilung aller α_2 -Werte in einem Histogramm dargestellt:

Mathematischer Exkurs zur Anfertigung eines
Histogrammes:

Es ist die Zusammenfassung aller Werte in sogenannte Klassen erforderlich. Dabei soll sein:

$$\text{Klassenzahl} \approx \sqrt{\text{Wertezahl}}$$

Die durchgeführten 35 Normal-Elektrophoresen ergaben: in der α_2 -Fraktion eine Streuung über 23 verschiedene Werte. Also:

$$\text{Klassenzahl} = \sqrt{23}$$

Daraus ergibt sich, daß eine Einteilung in 5 Klassen am günstigsten ist.

Tabelle aller α_2 -Werte und Einteilung in Klassen:

Normalwerte

rel. %														
	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43				
Vorkommen n mal	1	0	1	1	3	4	1	0	4	1				
44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58
2	1	4	2	4	0	2	1	1	0	0	1	1	0	0

Werte bei Mukopolysaccharidose

rel.%	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53
Vorkommen n mal	0	0	0	0	2	1	2	1	0	1
54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	
1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	

Häufigkeit

13

12

11

10

9

8

7

6

5

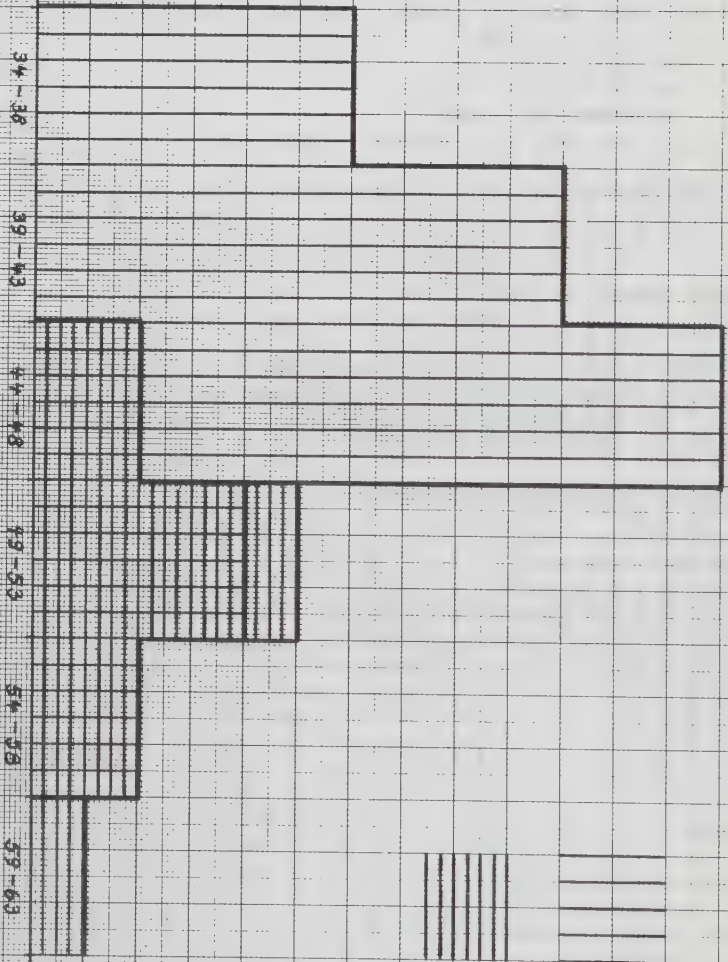
4

3

2

1

Histogramm der α_2 -Werte



normal

Mucopolys.

Werte
in
Klassen

Bei der Betrachtung des Histogrammes fällt auf, daß sich der Bereich der vorkommenden α_2 -Werte bei normalen Kindern weit überschneidet mit dem Bereich bei Kindern mit Mukopolysaccharidose. Da die Anzahl der Kinder mit Mukopolysaccharidose für eine statistische Auswertung relativ gering ist ($n=10$), stellt sich die Frage, ob sich die α_2 -Werte der kranken Kinder nicht "rein zufällig an der oberen Grenze der Norm" befinden, mathematisch ausgedrückt: ob überhaupt ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden α_2 -Mittelwerten besteht. Zu diesem Zweck soll mit Hilfe mathematisch-statistischer Methoden untersucht werden, mit welcher Wahrscheinlichkeit die beiden Mittelwerte aus einer verschiedenen Verteilung stammen. Es wird dabei der Abstand der beiden Mittelwerte voneinander, die Anzahl der gesunden und kranken Kinder und die Streubreite (Abweichungen vom Mittelwert) berücksichtigt. Die mathematische Formulierung dafür ist der sogenannte t-Test, der im folgendem Exkurs durchgeführt wird.

Mathematischer Exkurs: t-Test

$$t = \frac{\bar{x} - \bar{y}}{\sqrt{\frac{1}{n} + \frac{1}{m} \cdot \sqrt{\frac{1}{n+m-2} \left[\sum_{\mu=1}^n (x_{\mu} - \bar{x})^2 + \sum_{\nu=1}^m (y_{\nu} - \bar{y})^2 \right]}}}$$

$\bar{y}$ =Mittelwert aus allen α_2 -Werten bei gesunden

Kindern = 44,2

$\bar{x}$ =Mittelwert aus allen α_2 -Werten bei den kranken

Kindern = 51,9

m =Anzahl der gesunden Kinder = 35

n =Anzahl der kranken Kinder = 10

y_{μ} =Meßwert des gesunden Kindes mit der Nr. μ

x_{ν} =Meßwert des kranken Kindes mit der Nr. ν

y_μ	$y_\mu - \bar{y}$	$(y_\mu - \bar{y})^2$
$\mu=1:$ 48	3,8	14,4
47	2,8	7,8
44	0,2	0,04
43	1,2	1,4
42	2,2	4,8
38	6,2	38,4
42	2,2	4,8
56	11,8	139,2
48	3,8	14,4
38	6,2	38,4
36	8,2	67,2
45	0,8	0,6
39	5,2	27,0
38	6,2	38,4
48	3,8	14,4
50	5,8	33,6
37	7,2	51,8
34	10,2	104,0
42	2,2	4,8
52	7,8	60,8
50	5,8	33,6
42	2,2	4,8
46	1,8	3,2
40	4,2	17,6
46	1,8	3,2
47	2,8	7,8
55	10,8	116,6
39	5,2	27,0
46	1,8	3,2
48	3,8	14,4
46	1,8	3,2
39	5,2	27,0
51	6,8	46,2
39	5,2	27,0
$\mu=35:$ 44	0,2	0,04
		<u>1001,1</u>

x_ν	$x_\nu - \bar{x}$	$(x_\nu - \bar{x})^2$
$\mu=1:$ 49	2,9	8,4
50	1,9	3,6
54	2,1	4,4
60	8,1	65,6
56	4,1	16,8
53	1,1	1,2
51	0,9	0,8
50	1,9	3,6
48	3,9	15,2
$\mu=10:$ 48	3,9	15,2
		<u>134,8</u>

$$t = \frac{7,7}{\sqrt{\frac{1}{10} + \frac{1}{35}} \cdot \sqrt{\frac{1}{10+35-2} [134,8 + 1001,1]}}$$

$$= \frac{7,7}{\sqrt{\frac{9}{70}} \cdot \sqrt{\frac{1135,9}{43}}} \approx \frac{7,7}{3 \cdot \sqrt{0,38}} \approx 4,14$$

$t = 4,14 \rightarrow$ entspricht einer Wahrscheinlichkeit von 99,9 %
(laut statist. Tabellenwert)

Ergebnis des t-Testes:

Aus dem t-Wert von 4,14 geht m.H. der zugehörigen Tabelle, die hier nicht abgebildet wird, hervor, daß die beiden Mittelwerte mit einer Wahrscheinlichkeit von 99,95 % aus einer verschiedenen Verteilung stammen, d.h. daß zwischen ihnen ein signifikanter Unterschied besteht. (Dieser Begriff wird in der Statistik gebraucht, wenn sich aus dem t-Test eine Wahrscheinlichkeit von mindestens 99,0 % , bei manchen Autoren auch schon ab mindestens 95,0 % ergibt).

Die α_2 -Werte der 10 Kinder mit Mukopolysaccharidose liegen also nicht rein zufällig höher als der α_2 -Mittelwert von gesunden Kindern.

Da im letzten Kapitel in der Diskussion das Ergebnis u. a. daraufhin untersucht werden soll, ob diese α_2 -Erhöhung bei Mukopolysaccharidose zur Diagnose mitverwertet werden kann, wird jetzt noch einmal auf die Überschneidung der beiden Wertegruppen bei den gesunden und kranken Kindern eingegangen (Überschneidung s. Histogramm).

Die Werte der zehn kranken Kinder befinden sich im Bereich zwischen 48 und 68 rel.%. In diesen hohen Bereich reichen jedoch auch zehn Werte von den 35 gesunden Kindern hinein, d.h. fast ein Drittel aller gesunden Kinder haben α_2 -Werte, die in den Bereich der hohen α_2 -Werte bei Kindern mit Mukopolysaccharidose hineinreichen (wenn auch nur 3 von 35 Kindern über dem Mittelwert der Kinder mit M. liegen).

Aus dem Histogramm kann auch gesagt werden, daß die Werte der kranken Kinder "zuverlässig" hoch liegen, daß jedoch die Werte klinisch gesunder Kinder nach oben hin keine deutliche Grenze aufweisen, sondern vereinzelt relativ hohe Werte vorkommen.

DISKUSSION

Eine Veränderung in der Serumglykoprotein-Elektrophorese wurde bereits bei zahlreichen Krankheitsbildern beobachtet. In Anbetracht der Heterogenität und Komplexität der Serumglykoproteine sollte man sich darum bemühen zu bestimmen, welche Glykoproteine bei bestimmter Krankheit eine Veränderung erfahren.

In der vorliegenden Arbeit wurde gezeigt, daß bei Kindern mit Mukopolysaccharidose im Vergleich zu gesunden Kindern eine Abweichung in der Glykoprotein-Elektrophorese vorhanden ist. Es handelt sich dabei um eine singuläre Erhöhung der α_2 -Globuline.

Aus der Durchführung des t-Testes ging hervor, daß der Mittelwert der α_2 -Globuline signifikant über dem Mittelwert gesunder Kinder liegt. Daher weist das Ergebnis trotz der geringen Anzahl kranker Kinder ($n = 10$) darauf hin, daß es sich dabei nicht um einen Zufallsbefund handelt.

Im folgenden soll zunächst untersucht werden, ob sich diese Abweichung deutlich von Serumglykoprotein-Abweichungen bei anderen Krankheitsbildern unterscheidet. In der untenstehenden Tabelle werden bereits bekannte Veränderungen in der Glykoprotein-Elektrophorese bei bestimmten Krankheitsbildern aufgeführt, um vergleichen zu können, ob eine singuläre α_2 -Globulin-Erhöhung auch auf ein anderes Krankheitsbild hinweisen kann.

Tabelle zu Abweichungen in der Glykoprotein-Elektrophorese bei bestimmten Krankheiten:

<u>Krankheitsbild</u>	<u>Abweichung</u>	<u>(Lit.-Hinweis)</u>
Infekt und Entzündung	$\alpha_1\uparrow, \alpha_2\uparrow, \beta\downarrow$	(20)
	$\alpha_1\uparrow, \alpha_2\uparrow, \beta\downarrow$	(21)
	$\alpha_1\uparrow, \alpha_2\uparrow$	(8)
Malignom	$\alpha_1\uparrow, \alpha_2\uparrow, (\beta\uparrow, \gamma\downarrow)$	(20)
	$\alpha_1\uparrow, \alpha_2\uparrow, \beta\downarrow$	(22)
Leberschaden (diffus)	$\alpha_1\downarrow, \alpha_2\downarrow, \beta\downarrow$	(20)
Virus-Hepatitis	$\alpha_1\downarrow, \beta\uparrow, \gamma\uparrow$	(8)
Nephrose	$\alpha_1\downarrow, \alpha_2\uparrow, \beta\downarrow$	(20)
Hyperlipoproteinämie	$\alpha_1\uparrow, \alpha_2\uparrow, \beta\uparrow$	(2)
Myokardinfarkt (und Gewebezerfall)	$(\alpha_1\uparrow), \alpha_2\uparrow$	(20)
Rheumat. Arthritis	$\alpha_2\uparrow$	(20)
	$\alpha_2\uparrow, \gamma\downarrow$	(11)
Hyperthyreose	$\alpha_2\uparrow$	(20)
Schwangerschaft	$\alpha_2\uparrow, \beta\uparrow$	(20)
Diabetes mell.	Erhöhung gleichm.	(23)
Malaria	$\alpha_1\uparrow, \alpha_2\downarrow, \gamma\uparrow$	(8)
Mukopolysaccharidose	$\alpha_2\uparrow$	(eigene Unters.)

Aus der vorstehenden Tabelle ergibt sich, daß eine α_2 -Erhöhung in der Glykoprotein-Elektrophorese bei zahlreichen Krankheitsbildern auftritt, jedoch zumeist mit Abweichungen auch in anderen Fraktionen kombiniert ist. Eine singuläre α_2 -Erhöhung konnte in der Literatur nur bei Myokardinfarkt, bei rheumatoider Arthritis und bei Hyperthyreose gefunden werden. Es dürfte aber keine Schwierigkeiten geben, diese Krankheitsbilder von der Mukopolysaccharidose abzugrenzen, da sie jeweils eine deutliche klinische Symptomatik besitzen und mit Hilfe von Laborwerten gut diagnostizierbar sind.

Aus diesen Verleichen läßt sich schließen, daß eine Erhöhung nur der α_2 -Glykoproteine durchaus nicht zwingend zu dem Verdacht auf Mukopolysaccharidose führt, daß jedoch dabei an ein so seltenes Krankheitsbild gedacht werden sollte, was durch weitere Untersuchungen dann abzuklären wäre.

Weiterhin soll jetzt noch untersucht werden, ob sich die Glykoprotein-Elektrophorese als gezielter Suchtest auf Mukopolysaccharidose eignet. Diese Frage muß verneint werden, wenn man vergleicht, welche diagnostischen Möglichkeiten es heute-sonst noch bei Mukopolysaccharidose gibt. (Siehe dazu das Kapitel Mukopolysaccharidose in der Einleitung, Abs. 5: Diagnostik!). Diese sind heute so eindeutig und sicher, daß es nicht sinnvoll wäre, die relativ aufwendige Glykoprotein-Elektrophorese diagnostisch bei der Mukopolysaccharidose einzusetzen. Der Wert der α_2 -Globulin-Erhöhung bleibt aus diagnostischer Sicht auf einen "Hinweis auf Mukopolysaccharidose unter anderem" beschränkt, zumal auch bei gesunden Kindern gelegentlich sehr hohe Werte gefunden wurden.

Hilfreich bei der Diagnostik ist auch ein Test, der eine Aussage über den klinischen Schweregrad gestattet. Das hier vorliegende Ergebnis wurde in dieser Hinsicht geprüft. Es wurde erwogen, daß die α_2 -Globulin-Erhöhung parallel mit dem klinischen Schweregrad bei Mukopolysaccharidose einhergeht, oder daß ein Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der α_2 -Erhöhung und dem Typ der vorliegenden Mukopolysaccharidose besteht. Es konnte jedoch bei beiden Betrachtungen kein eindeutiges Ergebnis gefunden werden, da dafür die Anzahl der Patienten ($n = 10$) zu gering war.

Es soll nun noch einiges prospektives zum Ergebnis der vorliegenden Arbeit gesagt werden. Die signifikante Erhöhung der α_2 -Globuline bringt keine Aussage, um welches Glykoprotein es sich dabei genau handelt. Mit Hilfe der Glykoprotein-Immunoelektrophorese sollte geklärt werden, ob es sich dabei um ein neues Glykoprotein handelt, oder um die rein quantitative Erhöhung eines bereits bekannten Glykoproteins.

Weiterhin wäre es von Interesse, welche Bedeutung dieses Glykoprotein im Stoffwechsel der Kinder mit Mukopolysaccharidose hat. Auch ob es sich um ein klinisch unbedeutendes Nebenprodukt handelt, oder ob es eine Rolle spielt bei den klinisch manifesten negativen Auswirkungen des gestörten Stoffwechsels. Es sollte nicht angenommen werden, daß die Einlagerung der Mukopolysaccharide allein zur klinischen Symptomatik der Mukopolysaccharidose führt, sondern man sollte dafür offen sein, daß darüber hinaus weitere mit dem Mukopolysaccharid-Stoffwechsel zusammenhängende Stoffwechselvorgänge gestört sein und einen krankmachenden Effekt ausüben können.

Z U S A M M E N F A S S U N G

Einleitend wurde auf die Begriffe Glykoprotein, Mukopolysaccharide und Mukopolysaccharidosen eingegangen, sowie Material und Methode der vorliegenden Arbeit erläutert.

Es wurde die Serumglykoprotein-Elektrophorese bei zehn Kindern mit Mukopolysaccharidose dargestellt. Zum Vergleich wurde die Bestimmung bei 35 gesunden Kindern nach derselben Methode durchgeführt.

Eine Erhöhung der α_2 -Glykoproteinfraction wurde bei den Kindern mit Mukopolysaccharidose im Vergleich zu den gesunden Kindern gefunden.

Abschließend wurde diese α_2 -Glykoproteinerhöhung mit bereits bekannten Serumglykoproteinabweichungen bei anderen Krankheitsbildern verglichen und diskutiert.

Herrn Priv.-Dozent Dr. med. Suschke danke ich für die Überlassung und Leitung der Arbeit, Frä. Schiener für die Hilfe beim praktischen Teil.

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. SCHWICK, H.G., HEIDE, K.
"Glykoproteine des Humanplasmas".
Wiener Klin. Wschr., 85 (1973), 213-216
2. SNYDER, S., KUO, P.T.
"Serum Glycoproteins in Hyperlipoproteinemic Patients with and without Clinical Vascular Disease".
Clin. Chim. Acta, 46 (1973), 191-195
3. SPIRO, R.G.
"Glycoproteins".
Ann. Rev. Biochem., 39 (1970), 599-632
4. SPIRO, R.G.
"Glycoproteins, their biochemistry, biology and role in human disease".
New. Engl. J. Med., 281 (1969), 1043-1053
5. SPIRO, R.G.
"Glycoproteins, Structure, Metabolism, Biology".
J. Med., 269/11 (1963), 566-572
6. EYLAR, E.H.
"On the biological role of Glycoproteins".
J. theor. Biol., 10 (1966), S. 89
7. KLAINER, A.S., BEISEL, W.R., ATKINS, W.K.
"Determination of Serum Glycoproteins on cleared cellulose acetate strips".
Am. J. Clin. Path., 50/1 (1968), 137-141
8. KLAINER, A.S., CLYDE, D.F., BARTELLONI, P.J.
"Serum Glycoproteins in experimentally induced malaria in man".
J. Lab. & Clin. Med., 72/5 (1968), 794-802
9. KELSEY, R.L., de GRAFFENRIED, T.P., DONALDSON, R.C.
"Electrophoretic Fractionation of Serum Glycoproteins on cellulose acetates".
Clin. Chem., 11 (1965), 1058-1063
10. PEARCE, R.H., WATSON, E.M.
"Effects of Age and Sex on the electrophoretic Fractions of the Serum Glycoprotein".
Clin. Chem., 10 (1964), 1066-1077
11. SÜDHOF, H., KRUPPA, H., THUM, J.M.
"Die Glycoproteide innerhalb der Serumweißfraktionen beim chronischen Gelenkrheumatismus".
Z. Rheumaforschg., 18 (9/10) (1959), 337-348
12. COMMITTEE on Protein Nomenclature
J. biol. Chem. 4, XLVIII (1908)
13. KARLSON, P.
"Kurzes Lehrbuch der Biochemie".
G. Thieme Verlag, (1967), S. 52

14. WINTERBURN, P.J., PHELPS, C.F.
"The significance of glycosylated proteins"
Nature, 236 (1972), S. 147
15. GREISER, A.E.
"Glycoproteins in the serum of healthy subjects
and patients with myeloma".
Sb. Nauchn. Rabot. Vrachei Karel'sk SSR 4, 71 (1962)
16. NIKOLAEVA, T.G.
"Contents of Protein Fractions, Lipoproteins and
Glycoproteins in the Blood Serum of Healthy School
Age Children".
Problemy Pediatrii. Tura, A.F., Ed., Leningrad
Gas. Izd. Med. Lit., (1962), p. 50
17. KOHN, J.
"Zur Technik der Celluloseacetat-Elektrophorese"
Ärztl. Lab., 10 (1964), 233-248
18. KOHN, J. (London)
persönliche Mitteilung (1974)
19. VOGGEL, K.H. (Göttingen)
persönliche Mitteilung (1974)
20. BEHRINGWERKE AG, MARBURG/LAHN
Tabelle: Plasmaproteine
Handbuch der Sartorium-Membranfilter GmbH,
Göttingen, (Nov. 1971)
21. WERNER, M., ODENTHAL, D.
"Serum protein changes after gastrectomy as a
model of acute phase reaction".
J. Lab. Clin. Med., 70 (1967), 302
22. SNYDER, S., ASHWELL, G.
"Quantitation of specific Serum Glycoproteins
in Malignancy".
Clin. Chim. Acta, 34 (1971), 499
23. McMILLAN, D.E.
"Elevation of Glycoprotein Fucose in Diabetes
Mellitus".
Diabetes, 21 (1972), 863
24. JEANLOZ, R.W.
"The nomenclature of mucopolysaccharides".
Arthritis and Rheumat., 3:233, 1960
25. KOCH, F., deSOUSA, F.
"Zur Frühdiagnose der Mukopolysaccharidosen".
Med. Welt, N.F., 21 (1970), 362-364
26. SPRANGER, J.
"The systematic mucopolysaccharidoses".
Ergeb. inn. Med. Kinderheilk. N.F. 32, 165 (1972)
27. WENDEL, U., RÜDIGER, H.W., PASSARGE, E.
"Biochem. Diagnose der Mukopolysaccharidspeicher-
krankheiten in der Zellkultur".
Mschr. Kinderheilk. 122, (1974), 23-30

28. MEYER, K.
"Biochemistry and Biology of Muconolysaccharides".
Am. J. Med. 47 (Nov. 1969) 664-672
29. MUIR, H.
"The Structure and Metabolism of Muconolysaccharides
(Glycosaminoglycans) and the Problem of the Muco-
polysaccharidoses".
Am. J. Med. 47 (Nov. 1969), 673-690
30. DORFMAN, A., MATAION, R.
"The Hurler and Hunter Syndromes".
Am. J. Med. 47 (Nov. 1969) Nr. 5, 691-705
31. FRATATONI, J.C., HALL, C.W., NEUFELD, E.F.
"The Defect in Hurler's and Hunter's Syndromes:
Faulty Degradation of Mucopolysaccharide".
Proc. N.A.S., 60, (1968), 699-706
32. MCKUSICK, V.A.
"The Nosology of the Mucopolysaccharidoses".
Am. J. Med., 47 (Nov. 1969) Nr. 5, 730-743
33. PASSARGE, E., WENDEL, U., WÖHLER, W., RÜDIGER, H.W.
"Krankheiten infolge genetischer Defekte im lyso-
somalen Mukopolysaccharid-Abbau".
Dtsch. med. Wschr. 99 (1974), 144-158
34. WENDEL, U., WÖHLER, W., RUDIGER, H.W., PASSARGE, E.
"Aspekte der metabol. Korrektur von Zellen mit
patholog. gesteig. Mukopolysaccharidspeicherung".
Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 353 (1972), 1575
35. PRATANTONI, J.C., NEUFELD, E.F., UHLENDORF, JACOBSON
"Intrauterine diagnosis of the Hurler and Hunter
Syndromes".
New.Engl. J. Med. 280 (1969), 686
36. ERICKSON, R.P., SANDMAN, R., ROBERTSON, W., EPSTEIN, C.J.
"Inefficacy of fresh frozen plasma therapy of muco-
polysaccharidoses II".
Pediatrics 50 (1972), 693

LEBENS LAUF

geb. am 30.7.1942 in München

Eltern: Alfred Koch

Anni Koch, geb. Decker

Schulausbildung: Volksschule von 1949 - 1954 in München

Oberrealschule von 1954 - 1963 " "

Abitur im Juni 1963 in München

Ausbildung zur medizinisch-technischen Assistentin
von 1964 - 1966 in München.

Studium der Medizin von 1967 - 1973 an der Universität
München.

Ärztliche Prüfung 1973 an der Universität München.

Berufliche Tätigkeit: Medizinalassistentenzeit in
der Chirurgie im Krankenhaus Hausham/Schliersee und
im Klinikum Rechts der Isar; in der Inneren Medizin
im Krankenhaus Ebersberg.

Im Januar 1975 Heirat mit Josef A. Preisser Medizin-
student.

Seit Februar 1975 in Südafrika im Krankenhaus Pieter-
maritzburg tätig.

